Arnaldoa 22 (2): 381 - 394, 2015
ISSN: 1815-8242 (edición impresa)
ISSN: 2413-3299 (online edition)

Aislamiento y caracterización estructural de los principios activos hipoglucemiantes de *Rubus floribundus* Kunth (Rosaceae) "zarzamora"

Isolation and structural characterization of hypoglycemic active ingredients of *Rubus floribundus* Kunth (Rosaceae) "blackberry"


Juana del Carmen Guerrero Hurtado
Escuela Profesional de Estomatología, Facultad de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ
Guillermo León Aponte & Fredy Romel Pérez Azahuanche
Departamento Académico de Ciencias, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ
Fernando Rodríguez Ávalos
Ingeniería en Industrias Alimentarias, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ
Zoila Mercedes Ortiz Rubio
Bienestar Universitario, Laboratorio Clínico, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ

Recibido: 05 - 09 - 2015, aceptado 15 - 10 -2015; publicado diciembre 2015

Resumen

Rubus floribundus Kunth (Rosaceae) "zarzamora" es utilizado en la medicina tradicional para el tratamiento de hiperglucemia pero se desconoce aún las características estructurales de los principios activos responsables de dicha actividad. Se realizó el aislamiento y caracterización de los componentes mayoritarios del extracto en acetato de etilo de la rama florífera de *Rubus floribundus* Kunth (Rosaceae) "zarzamora" y se evaluó el efecto hipoglucemiante. Para el aislamiento de los componentes se empleó cromatografía en capa fina. La caracterización de los componentes aislados se realizó mediante espectroscopia IR. La evaluación hipoglucemiante se realizó mediante el método de la glucosa oxidasa con el equipo glucómetro Accu-Chek active, en *Rattus rattus* var. *albinus* con hiperglucemia inducida con aloxano. El análisis estadístico empleó el software SPSS y el paquete estadístico Minitab versión 17.1. De los siete componentes aislados sólo el componente codificado como C12AAg tuvo efecto hipoglucemiante; siendo mayor a la concentración de 150 mg/Kg, iniciando su efecto a la primera hora de post administración y normalizándose a las 24 horas similar al grupo blanco y menor a la concentración de 75mg/Kg, en *Rattus rattus* var. *albinus*. De acuerdo a su espectro infrarrojo, el componente aislado con actividad hipoglucemiante correspondería a la vitamina B5 (ácido pantoténico).

Palabras clave: Efecto hipoglucemiante, *Rubus floribundus* Kunth (Rosaceae), "zarzamora", principio activo.

Abstract

Rubus floribundus Kunth (Rosaceae) "blackberry" is used in traditional medicine for the treatment of hypoglycemia, but the structural characteristics of the active molecules, responsible of that activity, are still unknown. The isolation and characterization of the mayor components of ethyl acetate extract of the floriferous branch of *Rubus floribundus* were performed, and the hypoglycemic effect was evaluated. Thin layer chromatography was used for the isolation of components and infrared spectroscopy, for the structural characterization. Glucose oxidase method, with a glucometer Accu-Chech active equipment, was used for the evaluation of the hyperglycemia in *Ratus rattus* var. *albinus*, with hyperglycemia induced by alloxane. The SSPS software and the Minitab statistical package were used for the statistical analysis. Seven components were isolated, but only one, coded as C12AAg, had hypoglycemic effect, which was the highest at 150 mg/kg, that started at the first hour of post administration and normalized at the 24 hours, similar to the control group. The lowest effect was at 75 mg/kg. According to the infrared spectrum analysis, the structure of the isolated component with hypoglycemic activity belongs to B5 (pantothenic acid) vitamin.

Keywords: Hypoglycemic effect, *Rubus floribundus* Kunth (Rosaceae), "blackberry", active ingredient.

Introducción

Según los datos obtenidos de la Oficina de Estadística e Informática del Ministerio de Salud en el 2006, la *Diabetes mellitus* fue la decimoquinta causa de mortalidad afectando al 14% de los peruanos. En este contexto, Lima y Piura fueron las ciudades más afectadas (Cabrera-Morón *et al.*, 2010), en el 2011 se han presentado sólo en Lima 50 000 nuevos casos de diabetes, en hombres y mujeres de 39 a 50 años; también se detectó 203 casos en niños de 0 a 17 años, grupo etario que no debía padecer de esta enfermedad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) prevee que las muertes por diabetes se multipliquen por dos entre 2005 y 2030.

Actualmente, se dispone de 9 clases

de medicamentos para el tratamiento de la *Diabetes mellitus* tipo 2; sin embargo, los medicamentos recientemente desarrollados son generalmente menos potentes, a menudo menos efectivos en disminuir la glicemia, más caros y además se asocian a eventos adversos serios (Kumar, 2014; Bowker, *et al.*, 2006). Por otro lado, Marles & Farnsworth (1995) estimaron que existen alrededor de 1200 especies vegetales que se vienen usando mundialmente en la medicina tradicional contra la diabetes, con actividad hipoglucemiante. Dicha actividad se atribuye a que contienen compuestos fenólicos, flavonoides, terpenoides, cumarinas, alcaloides y otros constituyentes, los cuales han demostrado su poder de reducir la glucosa en la sangre (Jung *et al.*, 2006; Hong-Fang *et al.*, 2009).

Se han reportado metodologías para relacionar los estudios sobre la actividad hipoglucemiante de las plantas medicinales y su uso contra la diabetes, en donde se deben realizar estudios *in vitro, in vivo*, sobre toxicidad y separación de componentes activos puros y el estudio clínico respectivo (Haddad *et al.*, 2012).

Varios investigadores han reportado estudios de actividad hipoglucemiante y antihiperglucemiante de extractos de plantas medicinales aplicados a "ratas" (Castañeda & Condori, 2010; Silmara *et al.*, 2008; Meckes *et al.*, 2001) y también en humanos (Arroyo *et al.*, 2009; Hirata *et al.*, 1992), justificando científicamente de esta manera el uso de dichas especies contra la diabetes.

Los altos precios de los fármacos, que hace inaccesible su uso por la gran mayoría de pacientes, y su cada vez menor efectividad hace que el uso de las plantas medicinales, a un bajo costo y más accesibles, sea una mejor alternativa para controlar esta enfermedad. Por lo que, es necesario incrementar los estudios de las especies vegetales que poseen actividad hipoglucemiante, así como, aislar y caracterizar estructuralmente el principio activo puro. La "zarazamora" *R. floribundus* Kunth (Rosaceae) es una de las especies medicinales más comunes usadas contra la diabetes en la zona norte del Perú (Bussmann & Sharon, 2007). Se ha realizado un trabajo preliminar de la actividad hipoglucemiante del extracto de la rama floral, encontrándose resultados satisfactorios al aplicarlos en *R. rattus* var. *albinus* con hiperglucemia inducida (Pérez *et al.*, 2014). En el presente trabajo se ha logrado aislar y caracterizar un componente con actividad hipoglucemiante.

Material y métodos

La muestra vegetal fue recolectada en el departamento Cajamarca, provincia San Miguel, en el distrito de Calquis, a 2750 m de elevación, a una temperatura promedio de 12 °C donde esta planta es conocida como "zarzamora". Pertenece a la familia: Rosaceae, género: *Rubus* y especie: *floribundus* Kunth. Se secó la rama florífera bajo sombra por 15 días, luego se llevó a la estufa para eliminación completa del agua (humedad) a una temperatura de 40 °C por 48 horas. Finalmente, se molió en un molino mecánico hasta la obtención de un polvo fino y almacenado en bolsas herméticas, para su posterior uso.

Preparación de extractos

Para la separación cromatográfica de componentes, se obtuvo extractos de diferente polaridad con un equipo soxhlet, empleando una muestra de 60 g de muestra de "zarzamora" en polvo y solventes: éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo, metanol. Se eliminó el solvente, en cada caso, mediante un evaporador rotatorio. También, se obtuvo un quinto extracto por

maceración de 60 g de muestra en 250 mL de agua por 48 horas; se filtró y almacenó sin eliminación del solvente.

Para el ensayo de control de actividad hipoglucemiante, se preparó el extracto acuoso a partir de 10 g de muestra en 100 mL de agua destilada, se puso a ebullición por 5 minutos, luego se dejó macerar por 24 horas. Se concentró el extracto al rotavapor y luego se llevó a la estufa a 40°C para la completa sequedad por 3 días.

Separación de componentes

Se buscó el sistema de solvente que pueda separar mejor los componentes de los extractos acetato de etilo, empleándose láminas de silicagel de 7 x 2 cm, se hizo corridas con varios solventes con ayuda de la lámpara UV.

Se separaron los componentes del extracto por cromatografía de capa fina con cromatofolios de 20 x 20 cm, una cámara de vidrio con la mezcla de 25 mL de acetato de etilo y 25 mL de cloroformo. Las bandas de componentes obtenidos fueron separadas por raspado, almacenadas y etiquetadas. Se extrajo el componente de cada banda con acetona, luego metanol y agua.

Caracterización estructural

La caracterización estructural de los componentes aislados se determinó mediante el Espectrofotómetro de Transformadas de Fourier FT – IR Serie: Nicolet is50-FTIR Marca: Thermo Scientific (laboratorio de investigación multidisciplinaria –UPAO).

Evaluación de la actividad hipoglucemiante

Se utilizaron especímenes de la variedad *R. rattus* var. *albinus*, machos de 3 meses de edad, con peso entre 190 a 250 g procedentes del Instituto Nacional de Salud (INS).

El tamaño de la muestra estuvo constituida por 42 especímenes distribuidos en 7 grupos al azar en jaulas de 6 por cada grupo, manteniéndolos bajo condiciones ambientales naturales de temperatura y luz, con dieta balanceada para "ratas" de hasta 100 g/día y agua a libertad hasta el momento del estudio experimental (Navarro *et al*., 2004; Meckes *et al*., 2001).

Dosaje de glucosa basal: Método glucosa oxidasa

Se usó el Glucómetro Accu-CleK active, con sus respetivas tiras reactivas. Se determinó el valor de la glucosa a todos los especímenes previo ayuno de 12. La muestra sanguínea se obtuvo realizando una incisión en el ápice de la cola hasta obtener una gota homogénea y aplicándola directamente sobre la tira reactiva insertada en el glucómetro, observado visualmente en la pantalla la lectura correspondiente al valor de la glucosa.

Teniendo como valor Normal Referencial de 80-122 mg/dL valores de glucosa correspondiente a los especímenes del INS; se realizó el experimento en el bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

Inducción de hiperglucemia con reactivos Aloxano

A 36 especímenes de la experimentación previo a la inducción de la hiperglicemia, se les determinó la glucosa basal. Después, se provocó la hiperglucemia con solución de Aloxano 5% en Buffer fosfato (pH 7.3) dosis de 75 mg/kg de peso corporal a una sola dosis, por vía intraperitoneal monitoreando la concentración de glucosa, los especímenes que tuvieron dosaje de glucosa entre de 440-504 mg/dL se consideró en nuestro estudio (Pérez-Gutiérrez *et al*., 1998).

Efecto hipoglucemiante

Se trabajó con los siguientes grupos conformados:

Grupo I: Para el efecto hipoglucemiante del componente C12AAg - fracción acetato de etilo de *R. floribundus* kunth (Rosaceae) "zarzamora" a la concentración de 150 mg/kg en *R. rattus* var. *alvinus*

Grupo II: Para el efecto hipoglicemiente del componente C12AAg - fracción acetato de etilo de *R. floribundus* kunth (Rosaceae) "zarzamora" a la concentración de 75 mg/kg en *R. rattus* var. *alvinus*

Grupo III: Para el efecto hipoglicemiante del componente AM2F de *R. floribundus* kunth (Rosaceae) "zarzamora" a la concentración de 150 mg/hg en *R. rattus* var. *alvinus*

Grupo IV: Para el efecto hipoglicemiante del componente AM2F de *R. floribundus* kunth (Rosaceae) "zarzamora" a la concentración de 75 mg/kg en *R. rattus* var. *alvinus*.

Grupo V: Para el efecto hipoglicemiante del componente ACF de *R. floribundus* kunth (Rosaceae) "zarzamora" a la concentración de 150 mg/kg en *R. rattus* var. *alvinus.*

Grupo VI: Para el efecto hipoglicemiante del componente ACF de *R. floribundus* kunth (Rosaceae) "zarzamora" a la concentración de 75 mg/kg en *R. rattus* va. *alvinus*.

A los grupos de I al VI con hiperglucemia inducida, se les administro 2 mL de solución de cada componente a las concentraciones de 150 y 75 mg/kg, respectivamente, por vía oral

Grupo VII: Blanco

Al Grupo VII Blanco no se indujo la hiperglucemia ni tampoco se le administró la solución del componente, se le administró 2 mL de suero fisiológico como placebo.

La evaluación del efecto hipoglucemiante, se realizó posta administración del componente a la hora 2h, 3h, 4h, 5h, 6h y 24. Tomando muestras sanguíneas para determinar el dosaje de glucosa por el Método de Glucosa Oxidasa.

Resultados

La extracción con Soxhlet de 60 g de muestra en polvo de "zarzamora" obtuvo 0,78 g de extracto con éter de petróleo, 0,89 g con cloroformo, 0,993 g con acetato de etilo y 1,558 g con metanol. Por maceración en agua de 10 g de muestra se obtuvo 0,28 g de extracto.

El sistema de solvente más adecuado para separar los componentes del extracto de acetato de etilo fue de acetato de etilo/cloroformo 5:5.

Por cromatografía con cromatofolios de 20 x 20 cm se obtuvo 07 fracciones, los cuales fueron codificados y almacenados para su tratamiento posterior (Tabla 1).

Los componentes extraídos de las fracciones cromatográficas se muestran en la Tabla 2.

Los espectros infrarrojos de los principales componentes aislados por cromatografía de capa fina se muestran en las Fig. 1, 2 y 3.

Los resultados del efecto hipoglucemiante se muestran en la Tabla 3.

Discusión

El espectro infrarrojo del componente C12AAg (Fig. 1), separado de la fracción acetato de etilo, mostró la banda ancha entre 3800-3200 cm^{-1} correspondiente al grupo funcional –OH, un pico bastante pronunciado del grupo C=O carbonilo. La librería del espectrómetro FTIR indicó que

la estructura del componente concuerda con la estructura de la Vitamina B_5 (ácido pantoténico), Fig. 4. Además, de acuerdo a la literatura (Arsenio *et al.*, 1984), esta vitamina es usada en pacientes diabéticos para el control de la hiperglucemia.

El espectro infrarrojo de los componentes ACF y AM2F, comparada con la librería del equipo, indicó la presencia de poliacrilamida o componente de una especie vegetal que no corresponde a la especie en estudio.

Por los resultados espectroscópicos se decidió evaluar la actividad hipoglucemiante del componente C12AAg.

La Tabla 3, muestra los niveles promedios de glucosa (mg/dL) al inicio y a diferentes intervalos de tiempos de aplicado el tratamiento a los diferentes grupos experimentales con sus respectivas desviaciones típicas, por lo que, se puede afirmar que el grupo I al cual se aplicó concentración a 150 mg/kg de componente C12AAg - fracción acetato de etilo de *R. floribundus* Kunth (Rosaceae) "zarzamora" alcanzó a las 24 horas un nivel promedio de glucosa normal (110 mg/dL) con una desviación típica de 9,5 mg/dL, igual que el blanco de referencia.

Se realizó comparaciones entre los diferentes grupos experimentales y los niveles de glucosa a diferentes intervalos de tiempo de aplicado los tratamientos, utilizando diseños completamente aleatorizados mediante el análisis de varianza; el ANOVA aplicado es de una sola vía sin interacciones (Tabla 4). Se muestra la prueba de homogeneidad de varianzas en los grupos de *Rattus* según los nieles de glucosa alcanzado en los diferentes tratamientos y siendo el $p>0.05$ se concluye que las varianzas en los grupos son homogéneas. Para el supuesto de normalidad se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, obteniéndose un $p>0.05$ en todos los grupos, por lo que se confirma la normalidad de la variable niveles de glucosa en todos los casos.

La Tabla 5 muestra el análisis de varianza el cual determina que existe diferencia significativa ($p<0.05$) entre los diferentes grupos de tratamientos según el tiempo después de aplicación de los tratamientos, por lo que, se realizó la prueba Tukey-a de comparación de medias, para determinar, cuál es el grupo que presenta mayor diferencia promedio de los demás según los intervalos de tiempos de medición de los niveles de glucosa.

La Tabla 6, muestra los resultados de la prueba de comparación de medias para el nivel de glucosa (mg/dl) en grupo Blanco y grupos hiperglucémicos al inicio del experimento, en donde se evidencia que el grupo VII (Blanco) es el que difiere de los otros grupos de *Rattus* hiperglucemias; al observar los subconjuntos homogéneos de la Tabla 4 se concluye que: hay diferencia promedio significativa entre el grupo VII (Blanco) y los demás grupos de *Rattus* y además, el grupo V evidencia una diferencia promedio significativa entre los demás grupos de *Rattus* hiperglucemias.

La Tabla 7, muestra los resultados de la prueba de comparación de medias para el nivel de glucosa (mg/dl) en grupo Blanco y grupos hiperglucémicos a 24 horas de aplicado los tratamientos, en donde se evidencia el efecto hipoglucemiante que ha logrado el tratamiento a concentración 150 mg/kg de C12AAg - fracción acetato de etilo de *R. floribundus* Kunth (Rosaceae) "zarzamora", puesto que, alcanza niveles de glucosa normal y forman un subconjunto homogéneo con el grupo blanco, mostrándose este como el mejor

tratamiento.

Conclusiones

Se aislaron siete fracciones del extracto de acetato de etilo de la rama floral del *R. floribundus* Kunth (Rosaceae) "zarzamora" empleando la cromatografía en capa fina con silicagel.

Por la librería disponible en el equipo de FTIR sólo se identificó al componente C12AAg, el cual podría corresponder a la Vitamina B_5 (Ácido pantotenico).

El tratamiento a una concentración de 150 mg/kg del componente C12AAg - fracción acetato de etilo de *R. floribundus* Kunth (Rosaceae) "zarzamora" mostró mayor efecto hipoglucemiante a las 24, alcanzando el nivel normal de glucosa similar al grupo blanco.

Agradecimientos

Fondo de Apoyo a la Investigación (FAIN) 2014 UPAO – Vicerrectorado de Investigación – Universidad Privada Antenor Orrego

Literatura citada

Arsenio, L.; S. Caronna; M. Lateana; G. Magnati; A. Strata & G. Zammarchi. 1984. Hyperlipidemia, diabetes and atherosclerosis: Efficacy of treatment with pantethine. Acta Biomed Ateneo Parmense, 55:25– 42.

Arroyo, J.; J. Martínez; G. Ronceros; R. Palomino; A. Villarreal; P. Bonilla; C. Palomino & M. Quino. 2009. Efecto hipoglicemiante coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L "guanábana", en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida. AnFacmed, 70 (3):163-167.

Bowker, S. L.; S. R. Majumdar; P. Veugelers; J. A. Jonson. 2006. Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. Diab Care, 29: 254-8.

Bussmann, R. & D. Sharon. 2007. Plants of the tour winds- The magic and medicinal flora of Peru. Editorial Graficart, Trujillo-Perú, pp….

Cabrera-Morón, R.; I. Motta-Quijandría; C. Rodríguez-Robladillo & D. Velásquez-Carranza. 2010. Nivel de conocimiento sobre autocuidado en la prevención de complicaciones diabéticas en usuarios del Policlínico Chincha – EsSalud. 2009. Rev Enferm Herediana 3 (1): 29-36.

Castañeda, G. M. & E. M. Condori. 2010. Catálogo y estudio farmacognóstico de plantas medicinales del distrito de Llacanora, provincia de Cajamarca, departamento de Cajamarca. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico - Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Haddad, P. S.; L. Musallam; L. C. Martineau; C. Harris; L. Lavoie; J. T. Arnason; B. Foster; S. Bennett; T. Johns; A. Cuerrier; E. C. Come; R. C. Come; J. Diamond; L. Etapp; Ch. Etapp; J. George; Ch. H. Swallow; J. H. Swallow; M. Jolly: A. Kawapit; E. Mamianskum; J. Petagumskum; S. Petawabano; L. Petawabano; A. Weistche & A. Badawi. 2012. Comprehensive Evidence-Based Eastern James Bay Cree Traditional Medicine Hindawi Publishing Corporation Assessment and Prioritization of Potential Antidiabetic Medicinal Plants: A Case Study from Canadian Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume.

Hirata, S.; T. Abe & T. Imoto. 1992. Effect of crude gymnemic acid on oral glucose tolerance test in human being. J. Yonago Med. Assoc. 43: 392-396.

Hong-Fang, J.; L. Xue-Juan & Z. Hong-Yu. 2009. Natural products and drug discovery. EMBO Rep. 10:194-200.

Jung, M.; M. Park; H. C. Lee; Y. Kang; E. S. King & S. K. Kim. 2006. Antidabetic agents from medicinal plants. Curr. Med. Chem. 13:1203-1218.

Kumar, M.; L. Mishra; R. Mohanty; R. Nayak. 2014. "Diabetes and gum disease: The diabolic duo" Diabetes Metab Syndr. 8 (4): 255-258.

Marles, R. J. & N. R. Farnsworth. 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine. 2:137-139.

Meckes, M.; M. L. Garduño; S. Marquina & L. Álvarez. 2001. Iridoides adicionales de la planta medicinal *Astianthus viminalis* y su actividad hipoglucemiante y antihiperglucemiante. Revista de la Sociedad Química de México. 45 (4): 195-199.

Navarro, M.; J. Coussio; O. Hnatyszyn & G. Ferraro. 2004. Efecto Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de *Phyllanthus sellowianus* "sarandí blanco" en Ratones C57BL/Ks. Acta Farm. Bonaerense. 23(4): 520-523.

Pérez-Gutiérrez, R.; C. Pérez-González; M. Zavala-Sánchez & S. Pérez-Gutiérrez. 1998. Actividad hipoglucemiante de *Bouvardia terniflora*, Brickellia veronicaefolia y Parmentiera edulis. Salud Pública de México. 40 (4): 354-358.

Silmara, B.; F. Suzuki; S. Martins; R. Nakamura & C. Bersani. 2008. Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* "yacon" on glycemia in diabetic rats. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 44 (3): 521-530.

ANEXO

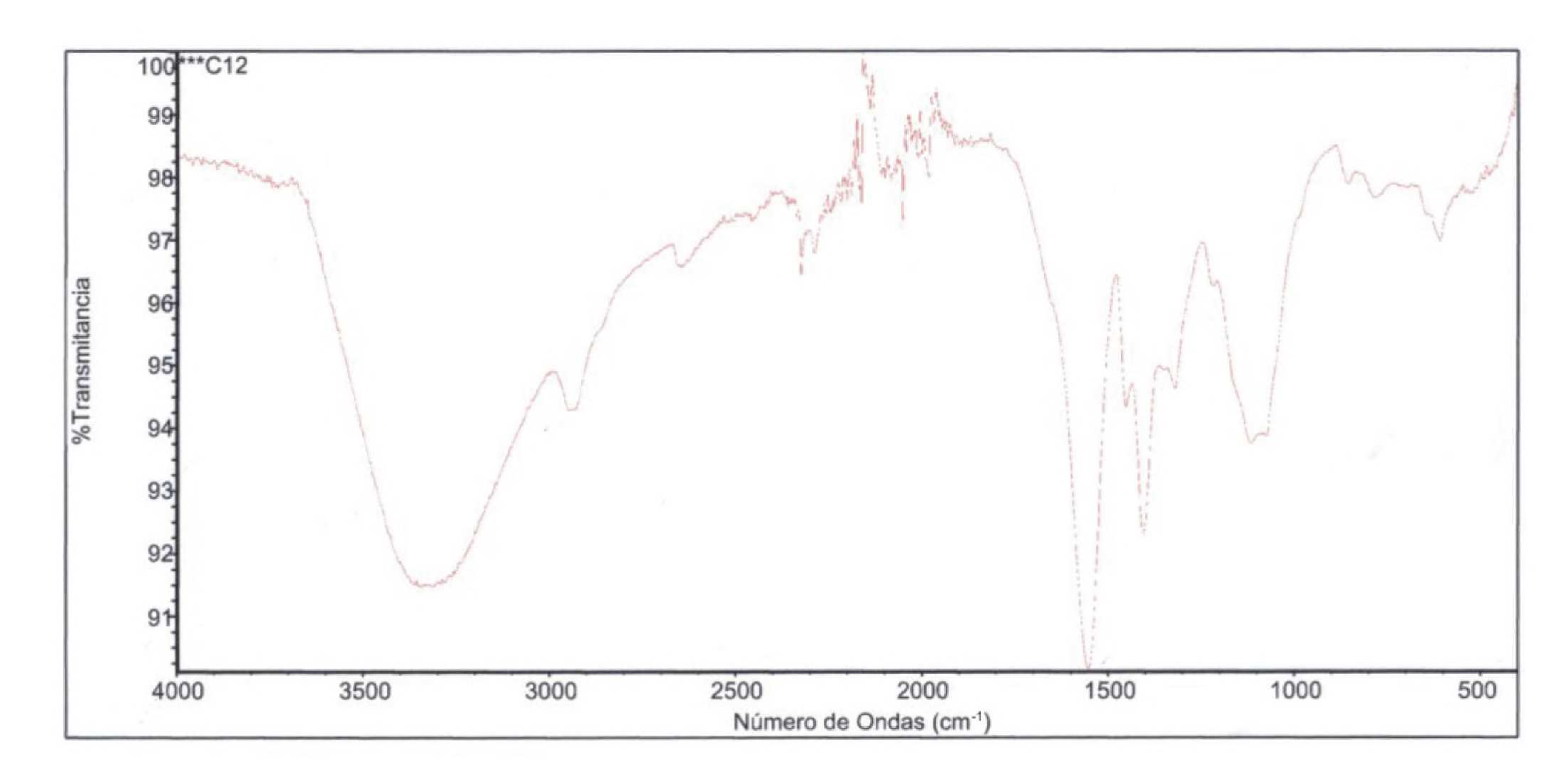


Fig. 1. Espectro infrarrojo del componente C12AAg

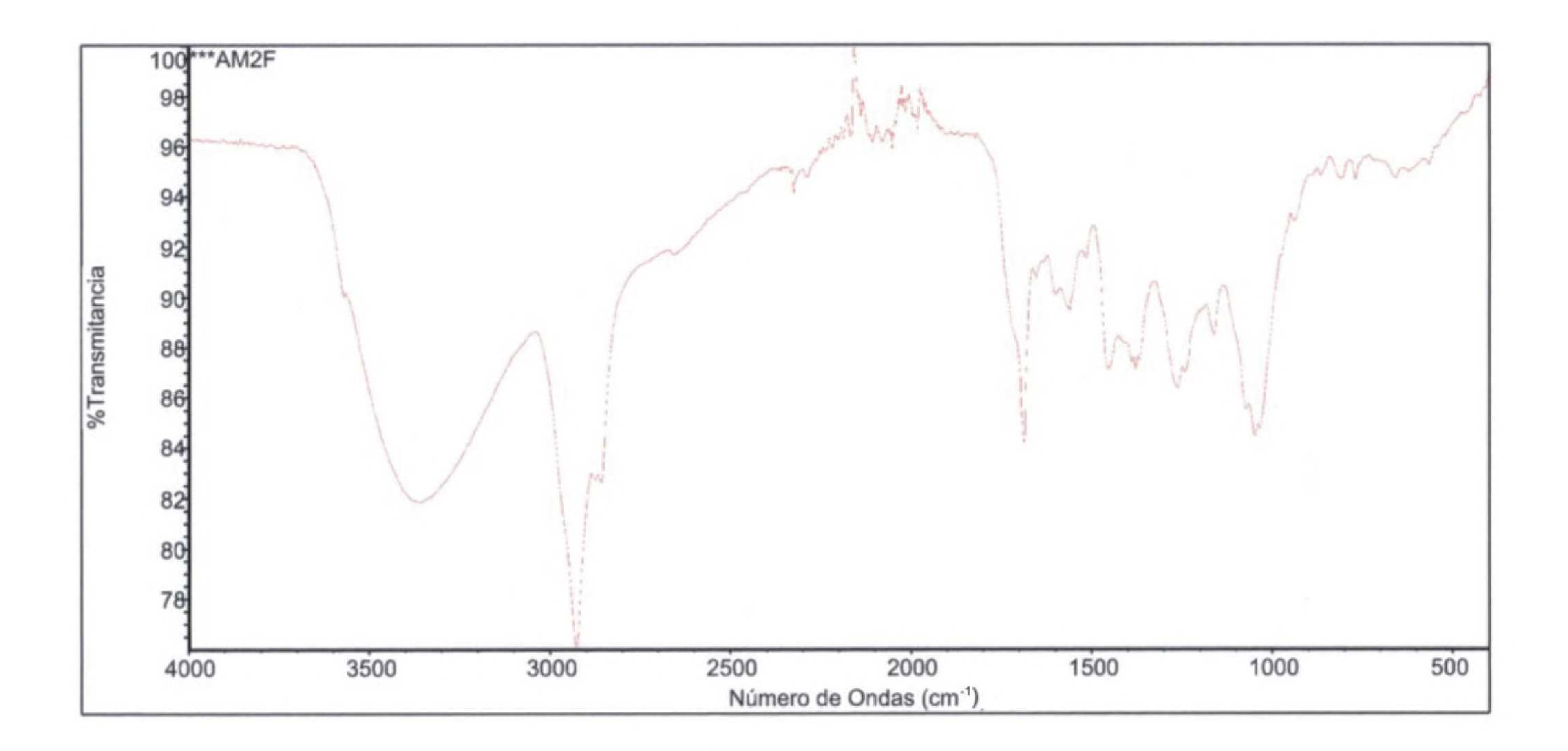


Fig. 2. Espectro infrarrojo del componente AM2F

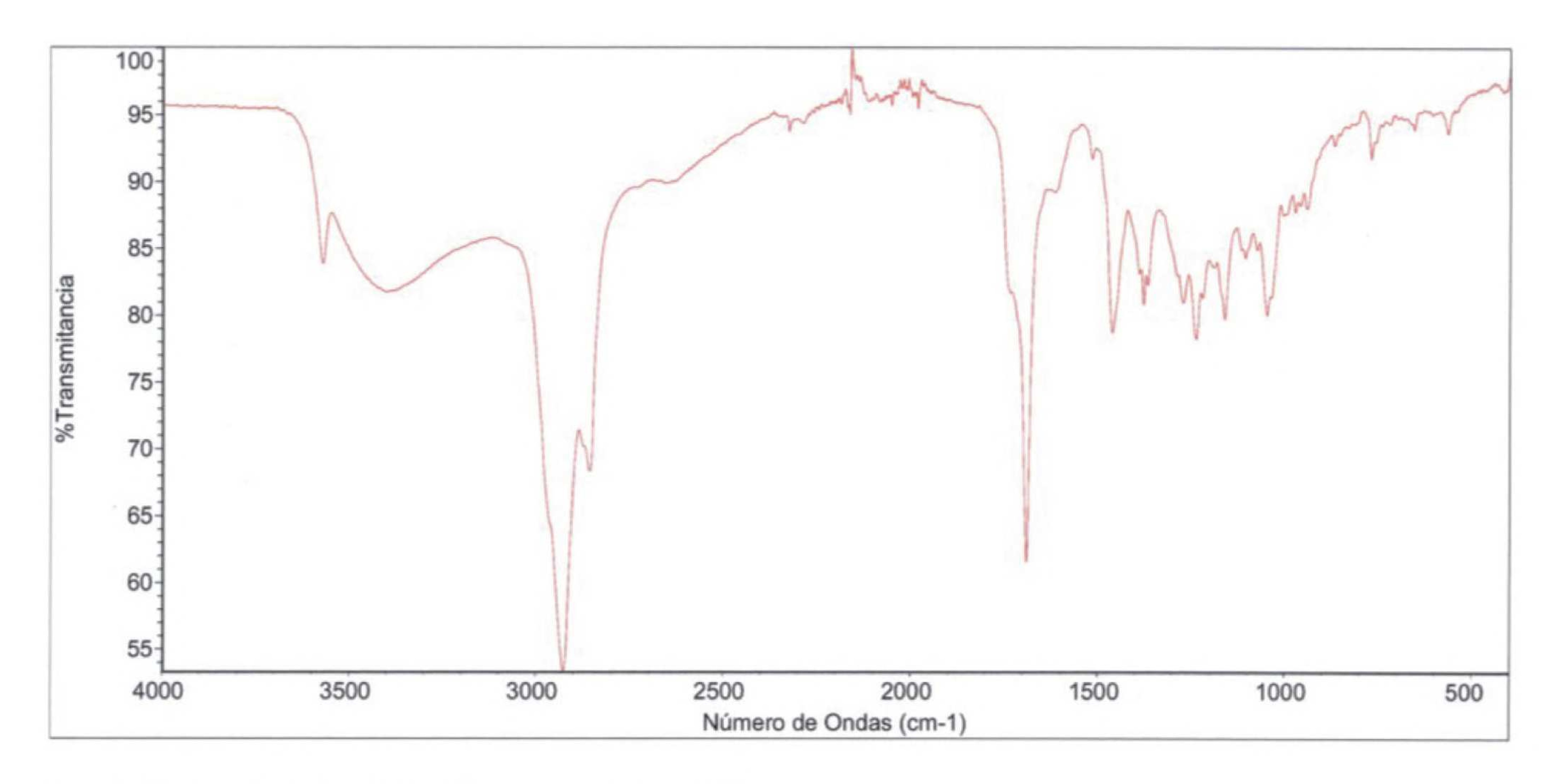


Fig. 3. Espectro infrarrojo del componente ACF

Fig. 4. Vitamina B_5 (ácido pantoténico)

Tabla 1. Fracciones de extracto acetato de etilo de *R. floribundus* kunth (Rosaceae) "zarzamora"

Fracciones	Rf	Color (UV) λ=365 nm
C1A	0.14	Morado
C2A	0.27	Celeste fosforescente
C3A	0.38	Marrón
C4A	0.46	Rojo y Marrón
C5A	0.63	Verde
C6A	0.74	Rosado
C7A	0.85	Marrón

Tabla 2 Componentes extraídos de las fracciones cromatográficas

N°	Componente	Solvente Usado	Gramos de componente obtenido	Color
1	C_1-A Ac.	Acetona	0.01	Crema verdoso
2	C_2-A Ac.	Acetona	0.02	Crema verdoso
3	C_3-A Ac.	Acetona	0.04	Crema verdoso
4	C_4-A Ac.	Acetona	0.04	Verde petróleo
5	C_5-A Ac.	Acetona	0.01	Verdoso cristalino
6	C_6-A Ac.	Acetona	0.02	Cristalino
7	C_7-A Ac.	Acetona	0.01	Cristalino
8	C_{51}-AM	Metanol	0.07	Marrón claro
9	C_{61}-AM	Metanol	0.09	Cristalino
10	C_{71}-AM	Metanol	0.02	Cristalino
11	C_{12}-AAg	Agua	0.08	Marrón
12	C_{22}-AAg	Agua	0.04	Marrón
13	C_{32}-AAg	Agua	0.03	Marrón
14	C_{42}-AAg	Agua	0.05	verde claro
15	C_{52}-AAg	Agua	0.03	verde cristalino
16	C_{62}-AAg	Agua	0.03	cristalino
17	C_{72}-A Ag	Agua	0.04	cristalino

Tabla 3. Variación de los niveles de glucosa (mg/dL) en el experimento en cada grupo de *Rattus*

Grupos	Glucosa (mg/dL)									
	Inicio		1 hora		3 horas		6 horas		24 horas	
	Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica	Media	Desv. Típica
I (150mg/kg de C12AAg)	476	20.5	396	22.8	258	12.1	158	11.7	110	9.5
II (75mg/kg de C12AAg)	477	19.9	597	19.7	430	22.2	411	23.2	398	35.5
III (150mg/kg de AM2F)	467	24.2	587	24.2	414	23.8	390	26.9	385	27.3
IV (75mg/kg de AM2F)	480	18.7	482	19.9	483	19.8	484	19.9	481	19.6
V (150mg/kg de ACF)	430	35.9	430	35.9	433	36.6	435	36.8	430	35.6
VI(75mg/kg de ACF)	464	31.1	464	31.1	465	32.1	467	33.0	465	30.9
VII(Blanco)	106	10.9	108	10.7	109	10.2	110	8.6	105	9.5

Fuente: Ficha de registro de datos

Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas en los grupos de *Rattus* de experimentación según niveles de glucosa (mg/dl) durante el experimento.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Nivel de glucosa inicial	0.929	6	35	0.487
Nivel de glucosa a 1 hora	0.908	6	35	0.500
Niel de glucosa a 3 horas	1.752	6	35	0.138
Nivel de glucosa a 6 horas	2.111	6	35	0.077
Niel de glucosa a 24 horas	2.125	6	35	0.075

Tabla 5. Análisis de varianza en los grupos de experimentación a diferentes horas de aplicado el tratamiento en *Rattus*.

Tiempo de aplicación	F. V.	S. C.	gl	C. M.	F	Sig.
Inicio	Inter-grupos	674365.000	6	112394.167	190.496	0.000
	Intra-grupos	20650.333	35	590.010		
	Total	695015.333	41			
a 1 hora	Inter-grupos	965879.810	6	160979.968	264.250	0.000
	Intra-grupos	21321.833	35	609.195		
	Total	987201.643	41			
a 3 horas	Inter-grupos	671927.952	6	111987.992	192.763	0.000
	Intra-grupos	20333.667	35	580.962		
	Total	692261.619	41			
a 6 horas	Inter-grupos	829411.000	6	138235.167	224.371	0.000
	Intra-grupos	21563.500	35	616.100		
	Total	850974.500	41			
a 24 horas	Inter-grupos	944240.238	6	157373.373	229.697	0.000
	Intra-grupos	23979.667	35	685.133		
	Total	968219.905	41			

Tabla 6. Prueba de comparación de medias para el nivel de glucosa (mg/dL) en grupo blanco y grupos hiperglucémicos al inicio del experimento.

HSD de Tukey-a				
Grupos de experimentación	**N**	**Subconjunto para alfa = 0.05**		
		1	2	3
VII (Blanco)	6	106.33		
V (150mg/kg de ACF)	6		430.00	
VI (75mg/kg de ACF)	6		464.17	464.17
III (150mg/kg de AM2F)	6		466.67	466.67
I (150mg/kg de C12AAg)	6			476.17
II (75mg/kg de C12AAg)	6			477.00
IV (75mg/kg de AM2F)	6			480.00
Sig.		1.000	0.152	0.915

Tabla 7. Prueba de comparación de medias para el nivel de glucosa (mg/dL) en grupo blanco y grupos hiperglucémicos a 24 horas de aplicado los tratamientos.

HSD de Tukey-a					
Grupos	**N**	**Subconjunto para alfa = 0.05**			
		1	**2**	**3**	**4**
VII (Blanco)	6	104,67			
I (150mg/kg de C12AAg)	6	109,83			
III (150mg/kg de AM2F)	6		384,50		
II (75mg/kg de C12AAg)	6		398,00		
V(150mg/kg de ACF)	6		430,33	430,33	
VI(75mg/kg de ACF)	6			464,67	464,67
IV (75mg/kg de AM2F)	6				481,33
Sig.		1,000	0,062	0,286	0,923





Fig. 5. *Rubus floribundus* Kunth "zarzamora". A-B. Ramas floríferas (Fotografía: Cortesía S. Leiva, HAO)